

Title	外来診療における細菌尿のスクリーニング-尿半定量培養のためのMicrostix-3の評価-
Author(s)	川村, 寿一; 細川, 進一; 友吉, 唯夫; 吉田, 修
Citation	泌尿器科紀要 (1976), 22(8): 915-920
Issue Date	1976-12
URL	http://hdl.handle.net/2433/122023
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

外来診療における細菌尿のスクリーニング

—尿半定量培養のための Microstix-3 の評価—

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田 修教授）

川 村 寿 一

細 川 進 一

友 吉 唯 夫

吉 田 修

EVALUATION OF MICROSTIX-3 TO DETECT A SIGNIFICANT
BACTERIURIA IN THE OUTPATIENT CLINICJuichi KAWAMURA, Shinichi HOSOKAWA, Tadao TOMOYOSHI
and Osamu YOSHIDA*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Director : Prof. O. Yoshida, M. D.)*

A survey was carried out to determine the sort and requencey of microorganisms isolated from infected urines in the outpatient clinic for two years (1975, 1976). Microstix-3 test paper to screen a significant bacteriuria was also evaluated.

E. coli was a most frequently isolated organism in 30-40% out of urinary pathogens and there was no big change in frequencies of other gram negative rods comparing with a survey in 1974. However, a tendency was found that gram positive cocci gradually increased in frequency.

70% of complete accuracy and 75% of allowable reliability were obtained from a comparison made between total bacterial count in Microstix-3 and colony count obtained from the standard bacterial culture in the central laboratory. This paper could also detect 84.3% of significant bacteriuria in the presence of infected urines with colony count more than 10^5 /ml. The part reacted to gram negative rods was useful for differentiating gram negative rods from gram positive cocci. When the part of nitrite color indicator turned a variable shade of red, it was convinced that a significant bacteriuria of gram negative rods more than 10^5 /ml existed in the specimen.

In conclusion, Microstix-3 paper may be applicable to evaluate a bacteriuria in the outpatient clinic.

ま え が き

日常の外来診療で遭遇する疾患のうち、尿路感染症の占める割合は依然として高いものがある。自覚症状と検尿所見、レ線ならびに膀胱鏡検査などから尿路感染症と診断されても有意な尿中細菌の確認が必要とされる。そして、治療の原則は原因菌の検出とそれに感受性をもった薬剤の投与にある。しかし、中央臨床検査室（中検）での尿中細菌の培養結果が外来へもどつ

てくるまで最低4日はかかり、薬剤感受性テストの成績を得るためにはさらに1日は余分に必要とする現状である。それまで手をこまねていることはできない。それゆえ、外来の診療の性質上、少なくとも1日以内に、スクリーニング的に細菌尿の確認ができることが望まれる。

ところで、外来での尿路感染症患者の尿から検出される菌の種類は、グラム陰性桿菌が大部分を占めているが、すでに今までにもみてきたように年々、多少の

変遷はしてきている^{1,2)}。

この論文では外来における尿路感染症治療の必要上、従来の観察にひきつづいて最近2年間の尿中検出菌の概要を調べ、細菌尿のスクリーニング法として Ames 社製の Microstix-3 の外来診療での有用性を検討したので報告したい。

対象ならびに研究方法

1) 1975, 1976年の2年間において、外来において検出された尿路感染菌の種類と頻度の調査をおこなった。
2) 1976年3月より12月までの外来患者のうち、下部尿路感染症状を訴えて来院した100症例をえらび、男子例では midstream clean catch 法、女子例では導尿法にて採取した尿に、Microstix-3 試験紙を浸し、37°C で一昼夜培養し、翌日その結果を判定した。同時に同一尿について、尿中細菌の定量培養菌数計算と菌数の同定・薬剤感受性試験を中検に依頼し、後日、本試験紙の成績と比較検討した。

被検尿としては、4時間以上膀胱内で蓄尿された早朝尿が望ましいが、外来診療の性質上、この条件を満たすことは不可能なことが多く、来院時にとられた新鮮尿を対象とした。これはだいたい2～4時間膀胱内に蓄尿された尿といえる。

下部尿路感染症症状としては、頻尿、排尿痛、残尿感など、膀胱刺激症状が大部分であり、発熱を伴っていたものは3例にすぎなかった。また他覚的には尿沈渣で10個/×400H.P.F 以上の白血球が検鏡された腰尿を対象とした。年齢は4歳～83歳(平均44.5歳)、男女比は男：女＝1：3であった。

なお、本試験紙の検討にあたって、当科受診前における抗生物質の使用の有無は考慮しなかった。

3) Microstix-3 試験紙の原理と使用法

この試験紙は 8.5×0.9 cm の細長い紙で同一試験紙上に、亜硝酸塩試験反応部分、グラム陰性菌数検出反

応部分、そして総細菌数検出反応部分の3つより成り立っている (Fig. 1)。

亜硝酸塩試験部分：本試験紙部分は、摂取された食事から代謝されて生じた硝酸塩が、尿中に細菌が存在すると、その作用によって亜硝酸塩に還元される現象に着目したもので、試験部分は酸性の pH に調整されており、尿中の亜硝酸塩はアルサニル酸と反応して、ジアゾ化合物を生成し、さらにこれが N-(1-ナフチル) エチレンジアミン・2 塩酸塩と結合して桃赤色を呈するようになる。

総細菌数試験部分：本試験紙部分には、グラム陽性菌とグラム陰性菌の両者の生育に最適な栄養素が乾燥状態で含まれており、さらに塩化トリフェニル・テトラゾリウム (TTC) が含まれているため、被検尿を浸し、37°C で培養すると、培養中に生育するほとんどすべての菌は TTC をフォルマザンに還元し、桃赤色のスポットを形成する。

グラム陰性菌数試験部分：本試験部分には同様の栄養素のほかに、グラム陽性菌の生育を抑制するデオキシコール酸ナトリウムが含まれており、したがって本試験部分の TTC の還元により生ずるフォルマザンの桃赤色の斑点は、グラム陰性菌の存在を示すことになる。

さて、被検尿にこの試験紙を浸し、すぐ取り上げ、余分の尿をたらし切って、30秒間に、亜硝酸塩試験部分が呈色(ピンクか否か)するかを調べる。ついで添付の無菌ビニール培養袋(4×11 cm)に入れて封をして、37°C の恒温器 (Fig. 2 のような恒温器がオプションで備えられており、いちどに30枚使用できる) に納め、12～24時間培養後、総菌数ならびにグラム陰性菌数部分にみられる赤色の小集落の数を添付の図表と比較して、 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 以上/ml の段階で菌数を読みとった。

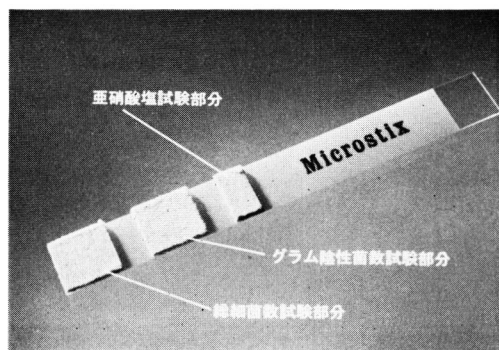


Fig. 1

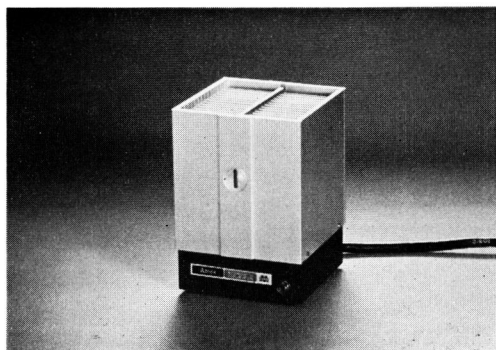


Fig. 2

成 績

1) 1975, 1976年の外来における尿中検出菌の頻度

1975年の外来患者中、尿培養を施行した症例は138例(148検体)で、これは年間の総外来患者の3.0%にあたる。このうち、 $10^5/\text{ml}$ 以上の有意な細菌尿を示したのは105検体(71.0%)で、その細菌のうちわけはFig. 3に示したとおりである。グラム陰性桿菌は全体の87.6%を占め、グラム陽性球菌は12.4%であった。1976年については、尿培養施行症例は148例(155検体)で、これは年間の総外来患者の3.1%に相当する。155検体中、有意な細菌尿を示したのは103検体(65.8%)で、その菌種はFig. 3にみるごとく、グラム陰性桿菌は84.5%、グラム陽性球菌は15.5%であった。

この2年間を比べてみると、グラム陽性球菌の検出率が増加する傾向がうかがわれる。また、グラム陰性球菌のなかでは *E. coli* がすこし増加しただけで、他の菌種間にはさほどめだつた変化は認められなかった。

2) Microstix-3 の成績

Fig. 4 と Fig. 5 に本試験紙を実際に使った結果を掲げた。Fig. 4 は向かって左から総菌数が、 10^5 以上(グラム陰性桿菌部分は陰性のゆえグラム陽性菌数を表わす)、 0 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 以上の順である。またFig. 5 には向かって左に、亜硝酸塩反応⊕、総菌数ならびにグラム陰性桿菌数 10^5 以上の例、右には、亜硝酸塩反応⊖、総菌数、グラム陰性桿菌数ともに 10^5 以上の例を掲げた。

イ) 総菌数部分

100被検尿に使用したMicrostix-3の成績(総菌数)を中検での定量培養の成績と比較したのがFig. 6である。縦軸に中検のcolony countを、横軸にMicrostix-3の総菌数をplotした。ただし、 10^5 以上では両成績を同一領域に含めて有意細菌尿(横じま部分)とした。本試験紙の成績を主體的に考えると、 $y=x$ 線より上は、この成績を過少評価(underestimate)し、下は過大評価(overestimate)したことになる。

両成績の完全一致性は、有意細菌の43検体、無細菌の20検体そして $y=x$ 上の7検体の計70検体(一致率70%)である。全体としての本試験紙の許容的信頼率は菌数 $10^2 \sim 10^4$ 間の成績($n=5$)を含めて、75%ということになる。また中検で有意な細菌尿($\geq 10^5/\text{ml}$)と判定した51検体中、本試験部分は43例(検出率84.3%)に 10^5 以上と判読したことになる。

本試験紙で有意な細菌尿を拾いえなかった“取りこぼし”は8検体(小斑点部分)、逆に 10^5 以上と誤ったものが5検体(大斑点部分)となる。

また、false negativeは7例(7%)で、これらには幸い 10^5 以上の検体は含まれていなかった。false positiveは5検体(5%)であった。

菌種別では、グラム陽性球菌の一致率は0%で、10検体中9検体が“underestimate”されているのが目につく。このうち 10^5 以上の細菌尿は3検体に認められた。

ロ) グラム陰性桿菌部分

この項目は前項目の総菌数とまずまずの一致性がみられたが、概して、 10^1 , 10^2 のorderで本部分が低く

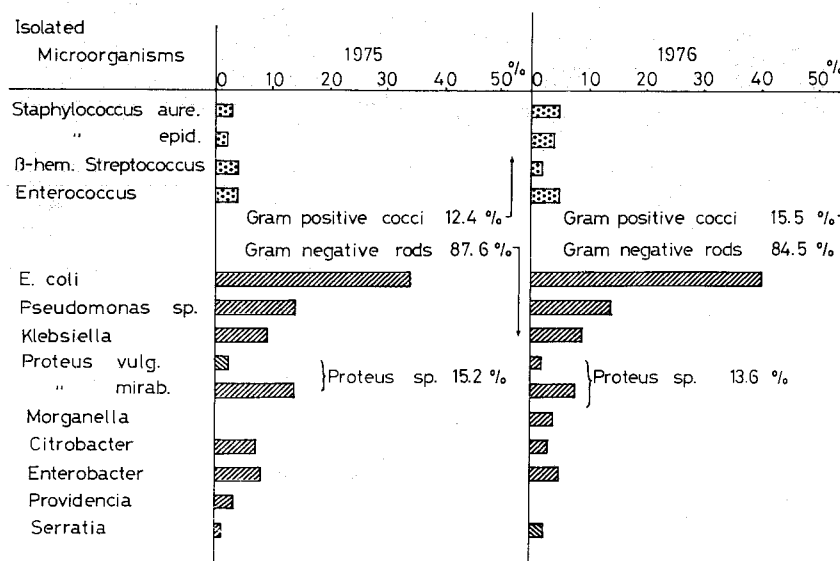


Fig. 3

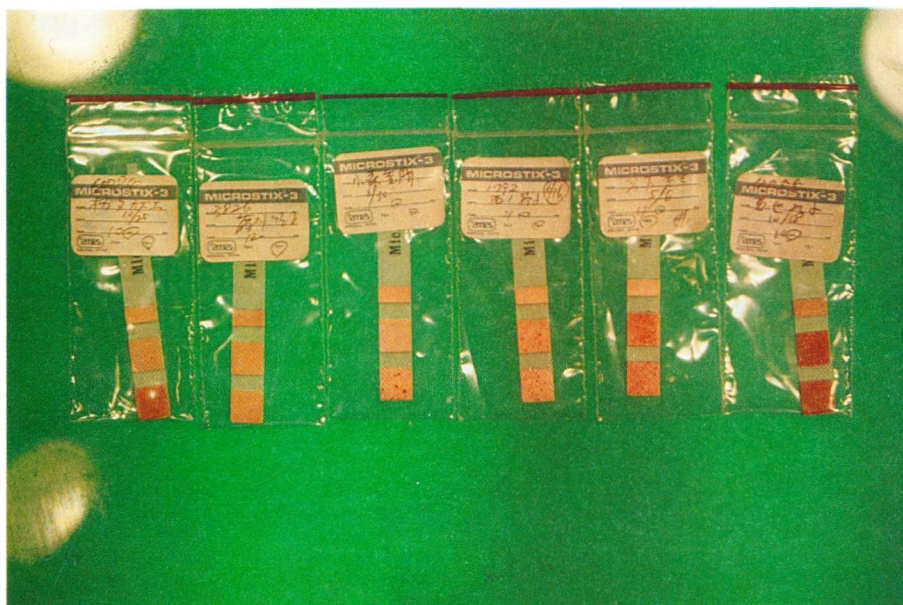


Fig. 4



Fig. 5

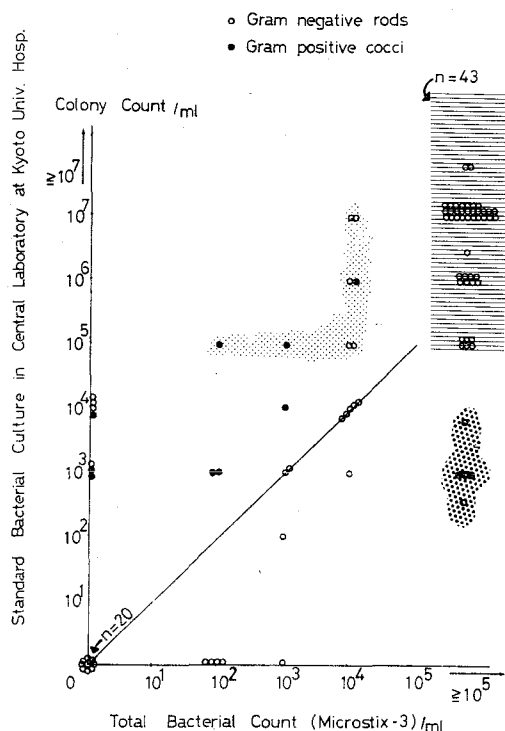


Fig. 6

出ることが経験された。*E. coli* の36例中4例に 10^1 のorderで、*Proteus* 属の6例中4例に $10^1 \sim 10^2$ のorderで、それぞれ低く検出された。一方、グラム陽性球菌については、*Staphylococcus* 8例では本部分は陰性、しかし、*Streptococcus* の2例では総菌数(10^4 以下であったが)より 10^1 低いorderで陽性にでた。これらにはグラム陰性桿菌の混入は認められていない。

ハ) 亜硝酸塩反応について

本反応部分が陽性にでたのは、有意細菌尿48検体中17検体(35.4%)で、菌種としては*E. coli* の13例(27例中)、*Pseudomonas* の4例(6例中)であった。他のグラム陰性桿菌、またグラム陽性球菌のすべてでは 10^5 ml以上であっても陽性にはでなかった。

考 察

現在、外来で尿路感染症例にであって、治療の必要が生じたとき、即座に有意な細菌尿の診断を下すことはむずかしい。しかし、最近病院の中央検査室や細菌検査室における菌の定量培養の結果を待たなくても細菌尿に対するスクリーニング法がいくつか考案されてきた。すなわちTTCを主剤とするウロチェック、シノテスト10号、ウロメトリーなどがあり、本試験紙と同様、 37°C 18時間培養後、細菌集落を算定するウリ

カルト法も検討されてきている。これらの成績をみても、信頼すべき結果をあげるためには、やはり尿を作用させて最低12時間以上の培養操作が要求されるようであり、受診の翌日から治療方針がたてられることになる。

このように有意な細菌尿を知るには最低1日、さらに菌種を知るには2日以上かかることから、適切な治療法の選択、抗生剤の使い方にも関係して常に尿路感染菌の現況を把握していることが要求される。最近2年間(1975, 1976)に当外来において検出された菌種は、*E. coli* が30~40%を占めており、1974年の成績²⁾さらには10年前のそれ¹⁾と比べるとあまり大差のないことがわかる。その他のグラム陰性桿菌、ことに薬剤の選択に困る*Klebsiella*, *Proteus* グループ、*Pseudomonas* の検出頻度はこの3年間はほぼ横ばいの状態であることは喜ばしいことである。もっとも、過去10年間にグラム陰性桿菌の検出頻度は80~90%で変動しており、最近の2年間ではむしろグラム陽性球菌の増加傾向がみられた。

さて、著者が細菌尿のスクリーニングに使用したMicrostix-3については本邦でもすでに使用経験が報告され、その有用性が述べられてきた³⁻⁵⁾。著者も中検における定量培養法による菌数と本法の総菌数を比較したところ、全体としての一致率は70%とあまり高率ではなかったが、 10^5 以上の細菌尿を拾うという点からは84.3%の検出率となり、諸家の報告³⁻⁵⁾と大差のない成績だといえる。したがって、本法は細菌尿のスクリーニング法として使えるとの印象を受けた。ちなみに諸家の成績をあげてみると、中検での定量培養法の成績と本法の総菌数を比べて、田尾ら³⁾は51%の一致率を、猪狩ら⁴⁾は 10^5 以上の細菌尿に限って75%の検出率を、小林ら⁵⁾は90%以上の信頼性をそれぞれあげたと述べている。また、Craigら⁶⁾、Moffatら⁷⁾は90%近い陽性の検出率を報告している。Winter⁸⁾によると、本試験紙の総菌数は、カテーテル尿については78~86%の、自排尿については82~84%の正確率を示し、中検の定量培養法には劣るが、鏡検法にはまさっていると述べている。

猪狩ら⁴⁾によると実験的細菌尿について本試験紙の菌種による成績の相違点や再現性を調べている。それによると*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* では培養時間を追って一致性が高かったが、*Morganella* や *Pseudomonas* では実際より少ないめの菌数結果がかなりの時間をかけた培養ででていると述べている。また再現性に関しては試験菌種のすべてにおいて、亜硝酸塩反応部分ではわなかったが、2つの細

菌数部分では *Pseudomonas* を除いて一致したと報告している。著者の臨床例では false negative を示した菌種は *Pseudomonas* 9例中2例, *E. coli* 38例中3例で、これら5例はいずれも中検で 10^4 以下の菌数例であった。この原因については今後検討されるべきであろう。なお、*Candida* は1検体に認められたが本試験紙ではどの部分も陰性であった。

次にグラム陽性球菌については、本試験紙では総菌数で $10^4 \sim 10^2$ の order で低く判定することが多く、10例中3例に false negative と読まれた。また、*Streptococcus* の2例ですこし理解に苦しむような呈色を示したが、グラム陽性球菌が、グラム陰性菌数部分にひっかかってくることはないの、本試験紙によって 10^5 以上の細菌尿についてはグラム陰性桿菌とグラム陽性球菌とのおおまかな区別ができそうである。

一方、亜硝酸塩反応部分では、 10^5 以上の細菌尿でも陽性率が低く、35.4%であった。*E. coli*, *Pseudomonas* 以外のグラム陰性桿菌、グラム陽性球菌ではすべてに 10^5 以上でも陽性率は0であった。もっともこれには著者の採尿条件が本試験紙のそれに合致していなかったことが低い陽性率の原因のひとつとしてあげられよう。また、硝酸塩を還元しうる細菌 (*E. coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* など) があまりに多すぎると亜硝酸塩が次の段階にまで分解されて本反応部分が陰転するといわれている^{9,10}。しかし、逆に考えて本反応部分は 10^5 以上の細菌尿を30秒間に見のがすことが多いが、本反応が陽性にできれば、 10^5 以上のグラム陰性桿菌の感染と診断できそうである。

結 語

日常の外来診療において尿路感染症に対する適切な治療指針に関係する事がらとして、最近の外来における尿中分離細菌の変遷をしらべ、有意な細菌尿のスクリーニングとして、Microstix-3 試験紙の有用性を検

討した。

1975, 1976年の2年間では、尿路感染菌の主体は *E. coli* で30~40%を占め、他のグラム陰性桿菌の検出頻度にはさほどの変化はみられなかった。しかし、グラム陽性球菌の検出率がやや最近増加のきざしにあるといえる。

本試験紙による総菌数と中検における定量培養法によるそれとの一致率は70%, 許容的信頼率は75%であったが、 10^5 以上の細菌尿に限ると84.3%の検出率を得た。グラム陰性桿菌数部分は総菌数部分に比べて検出率がやや劣るようであったが、グラム陽性球菌をスクリーニングするには有用であった。また、亜硝酸塩反応部分の陽性例では 10^5 以上のグラム陽性桿菌の細菌尿と診断できた。

したがって、Microstix-3 は日常のいそがしい外来診療での細菌尿のスクリーニングとしては、本試験紙の特性や採尿条件を考慮に入れるとじゅうぶんに使用できるものと思われる。

引 用 文 献

- 1) 川村・ほか：泌尿紀要, 18: 902, 1972.
- 2) 川村・ほか：泌尿紀要, 21: 49, 1975.
- 3) 田尾・ほか：臨床検査, 18: 189, 1974.
- 4) 猪狩・ほか：臨床と細菌, 1: 207, 1974.
- 5) 小林・ほか：診断と治療, 63: 1250, 1975.
- 6) Craig, W. A. et al.: Appl. Microbiol., 26: 196, 1973.
- 7) Moffat, C. M. et al.: Appl. Microbiol., 28: 95, 1974.
- 8) Winter, C. C.: J. Urol., 114: 755, 1975.
- 9) Schaus, R.: TW J. A. M. A. 161: 528, 1956.
- 10) Smith, L. G. et al.: Ann. Int. Med., 54: 66, 1961.

(1976年12月20日特別迅速掲載受付)